

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Jeruk Keprok**

Indonesia merupakan negara tropis dimana berbagai jenis jeruk banyak dijumpai dan dibudidayakan mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi (Tobing *et al.*, 2013). Tanaman jeruk merupakan komoditas buah-buahan yang termasuk kedalam jenis tanaman yang sangat dibutuhkan manusia untuk pemenuhan gizi yang seimbang sebagai sumber vitamin, mineral dan protein yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh. Di Indonesia jeruk merupakan salah satu komoditas buah-buahan penting, sehubungan dengan nilai ekonomo, gizi dan produksinya (Rizal & Sriwulan, 2015).

Buah jeruk pertama kali dibudidayakan di Cina dan timur laut India kemudian berkembang luas di daerah Eropa dan Amerika untuk dikonsumsi buahnya dan digunakan juga kulit serta buahnya sebagai bahan-bahan obat tradisional (Milind & Chaturvedi., 2012). Tanaman buah jeruk yang sudah ada di Indonesia merupakan peninggalan orang Belanda yang mendatangkan jeruk manis dan keprok dari Amerika dan Eropa. Jeruk keprok atau jeruk Mandarin (*Citrus reticulata*) merupakan jenis jeruk yang dapat berkembang atau tumbuh subur pada daerah tropis maupun sub tropis (Wahyuningsih, 2009).

##### **2.1.1 Klasifikasi Tanaman**

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Order : Sapindales  
Family : Rutaceae  
Subfamily : Aurantoideae  
Genus : Citrus  
Species : *Citrus reticulata*  
(CCRC, 2001).



**Gambar 2. 1** A. Tanaman Jeruk (*Citrus reticulata*), B. Buah Jeruk (*Citrus reticulata*) (Rose & William, 2009)

### 2.1.2 Nama Daerah

Bali	: Tejakula
Kalsel	: Siam Banjar
Sumut	: Siam Madu
Kalbar	: Siam Pontianak
Jawa Barat	: Keprok Garut
Jawa Tengah	: Keprok Tawangmangu
Jawa timur	: Keprok pulung
NTT	: Keprok Soe

(Hardiyanto, *et al.*, 2007)

### 2.1.3 Morfologi

Jeruk merupakan tumbuhan yang memiliki pohon dengan lebar dan tinggi 3-5 meter, memiliki tangkai yang berduri. Tangkai daun sempit hampir tidak bersayap, daun memiliki bentuk *unifoliate* dengan panjang 6-8 cm. Helaian daun yang berbentuk bulat telur memanjang dengan ujung yang tumpul, melekok kedalam, dan tepi yang bergerigi. Bunga mempunyai daun mahkota putih, berkelamin dua, 1-3 terdapat pada ketiak fasikula. Kelopaknya memiliki bentuk tidak teratur, dengan kelopak berwarna putih, benang sari 20-25 atau bisa lebih. Buahnya berbentuk lingkaran dengan panjang 5-9 cm, kulit buah berwarna hijau

berubah cerah mengkilap kuning jika buah sudah mulai matang. Daging buah berwarna orange dengan kelenjar minyak yang cekung, kulit buah yang tebal dan mempunyai rasa yang manis asam, terkadang pahit, dengan sedikit biji tau jarang memiliki biji. Biji biasanya memiliki bentuk bulat telur, halus, dasar bulat, memiliki embrio yang banyak, jarang terdapat soliter, kotiledon berwarna hijau (Lim, 2012).

#### **2.1.4 Daerah Asal Dan Penyebaran**

Tanaman jeruk yang saat ini dibudidayakan di Indonesia merupakan peninggalan dari Cina dan Vietna dimana daerah tersebut merupakan hutan tropis serta memiliki curah hujan yang cukup tinggi. Kedua daerah tersebut memiliki tanah yang subur, hawanya lembab dan musim kering tidak lebih dari 3 bulan. Akan tetapi perkebunan jeruk terluas bukan terletak di Asia melainkan di daerah sub tropis seperti USA, Italia, Spanyol, Israel, Mesir, Afrika selatan dan Australia bagian selatan (Wahyuningsih, 2009). Tanaman jeruk memiliki banyak kegunaan selain buahnya sebagai makanan, daun maupun kulit dari buahnya banyak digunakan sebagai obat tradisional (Lim, 2012).

#### **2.1.5 Manfaat**

Jeruk *Citrus reticulata* dipercaya memiliki beberapa khasiat yakni pada bagian buah digunakan sebagai antitoksik, mual, muntah, sakit perut, sakit tenggorokan, obat bisul, amandel. Pada bagian kulitnya biasa digunakan sebagai antitoksik, deuretik, pencakar, pusing, bunga untuk stimulant jantung, sakit perut, mual, muntah, dan batangnya digunakan untuk stimulant jantung. Tumbuhan ini juga memiliki khasiat sebagai antikarsinogenik, hyperglikemia, antiinflamasi, antialergi, analgesik, antimikroba, antidepresan, dan antibakteri (Sidana, 2013).

Kulit jeruk juga mengandung minyak atsiri yang biasa dimanfaatkan oleh industri kimia untuk bahan pembuatan parfum, menambahkan aroma jeruk pada minuman dan makanan (Muhtadin, *et al.*, 2013). Aroma terapi pada minyak atsiri kulit jeruk juga bermanfaat untuk menstabilkan sistem saraf pusat, menimbulkan perasaan tenang, melancarkan peredaran darah, meredakan radang tenggorokan, batuk dan menghambat sel kanker (BPTBT, 2008).

### 2.1.6 Kandungan

Kandungan yang terdapat dalam tumbuhan jeruk keprok adalah vitamin c, asam askorbat, flavonoid, senyawa fenol, limonid dan pectin yang penting untuk nutrisi dan kesehatan. Buah jeruk keprok termaksud merupakan sumber kaya flavonoid seperti flavonon, flavon dan flavonol. Pada kulit dari buah dari tanaman *Citrus reticulata* mengungkapkan adanya senyawa seperti terpen, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol (Lim, 2012).

### 2.1.7 Aktivitas Antibakteri Kulit Buah *Citrus reticulata*

Dimana sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap *Citrus reticulata* untuk melihat kandungan serta khasiat sebagai antibakteri. Kandungan flavonoid atau lebih khususnya flavanol yang terdapat pada kulit buah *Citrus reticulata* merupakan aglikon rutin glikosida. Flavonoid dikenal karena kemampuannya untuk meningkatkan efek asam askorbat. Flavonoid melindungi sistem vascular dengan memperkuat merawat dan memperbaiki kapiler. Flavonoid memiliki kemampuan inheren yang kuat untuk memodifikasi reaksi tubuh terhadap allergen antimikroba, fungsi biologi dari flavonoid juga termasuk tindakan melawan alergi (Okwu, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh (Sultana, *et al.*, 2012) sebelumnya, didapatkan minyak atsiri dari kulit buah *Citrus reticulata* dengan metode ekstraksi destilasi hidrolis. Untuk melihat aktivitas antibakteri digunakan metode difusi cakram dengan dosis 9 µ/ml menghasilkan zona hambat sebesar 16 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

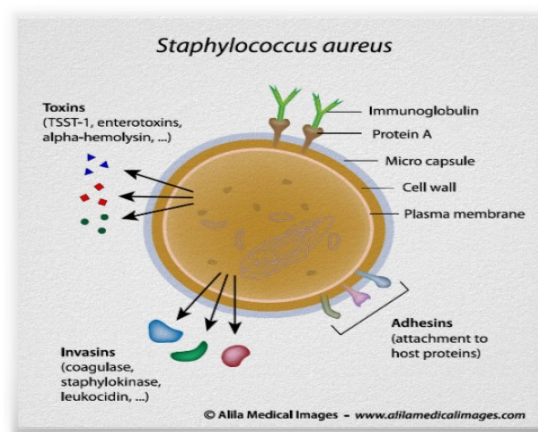
## 2.2 Tinjauan Umum *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen utama manusia, dan infeksi yang dikarenakan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan meskipun terkenal dengan infeksi kulit dan jaringan lunak *staphylococcus aureus* juga menyebabkan berbagai infeksi serius seperti osteomyelitis, pneumonia dan bakteremia (Hardana dan Warganegara, 2015). *Staphylococcus aureus* masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, tusukan jarum atau melalui saluran pernafasan. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri aerob yang bersifat gram- positif dan merupakan salah satu flora normal manusia pada kulit dan selaput mukosa. infeksi *Staphylococcus aureus* pada manusia bervariasi mulai

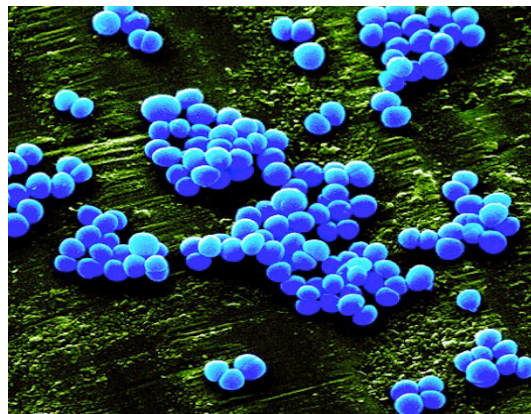
dari keracunan makanan hingga infeksi kulit ringan sampai berat yang mengancam jiwa. Jika *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka kemungkinan bisa terjadi endokarditis, osteomyelitis hematogenus akut, meningitis, dan infeksi paru-paru (Triana, 2014).

### 2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria  
 Filum : Firmicutes  
 Kelas : Bacilli  
 Ordo : Bacillales  
 Famili : Staphylococcaceae  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Spesies : *Staphylococcus aureus*  
 (Brooks *et al.*, 2012).



**Gambar 2. 2** Organela *Stapylococcus aureus* dengan Mikroskop Elektron (Alilmedia, 2011)



**Gambar 2. 3** *Stapylococcus aureus* dengan Mikroskop Elektron (Todar, 2012).

### 2.2.2 Morfologi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 um, tersusun dalam kelompok-kelompok yang teratur seperti buah anggur, fakultatif anerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak, bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu 20-25°C (Fadlila, *et al.*, 2015). Komponen utama dinding sel adalah peptidoglikan yang menyusun hampir 90% dari berat dinding sel. Peptidoglikan tersusun dari polimer polisakarida (asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramik), polipeptida (L-Ala, D-Glu, L-Lys, D-Ala, D-ala) dan sebuah jembatan pentaglisin. Melalui katalisis transpeptidase oleh *Penicillin-Binding Protein* (PBP), setiap peptidoglikan akan saling berikatan dengan peptidoglikan lainnya dengan cara merubah rantai alanin agar berikatan dengan jembatan pentaglisin dari peptidoglikan lainnya. Proses menghasilkan suatu struktur dinding sel yang padat. Beberapa enzim juga dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*, diantaranya koagulase, *clumping factor*, hialuronidase dan  $\beta$ -laktamase (Wirahjasa dan Putu, 2012).

### 2.2.3 Patogenesis dan Patologi

Patogenesis infeksi bakteri meliputi permulaan awal dari proses infeksi hingga mekanisme timbulnya tanda dan gejala penyakit. Ciri-ciri bakteri patogen yaitu kemampuan untuk menularkan, melekat pada sel inang menginvasi sel inang dan sel jaringan mampu untuk meracuni dan mampu untuk menghindari dari sistem kekebalan sel inang (Jawetz, *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan sebagai flora normal dari normal kulit pada manusia, saluran pernafasan dan saluran pencernaan makanan. Pada 6,6% bayi berumur 1 hari telah ditemukan staphylococcus dihidungnya, 50% pada umur 2 hari, 62% dari umur 3 hari, dan 88,8% pada umur 4-8 hari (Syahrurachman, *et al.*, 2002).

*Staphylococcus aureus* juga dapat ditemukan diudara dan lingkungan disekitar kita. patogenesisnya merupakan efek gabungan dari berbagai macam metabolit yang dihasilkannya. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif penyebab hemolisis membentuk koagulasi, mencairkan gelatin, membentuk pigmen kuning emas dan meragi manitol. yang tidak pathogen tidak bersifat infasif, non hemolitik,

berwarna putih, tidak membentuk koagulasi dan tidak meragi manitol. selain itu kuman *Staphylococcus aureus* dapat juga menyebabkan terjadinya septikimia, endokarditis, meningitis, abses serebri, sepsis puerpularis, thrombosis sinus, kavernosus, orbitalis, osteomielitis dan pneumonia (Syahrachman, *et al.*, 2002).

Frunkel atau abses lainnya merupakan suatu contoh lesi oleh *Staphylococcus aureus*. kuman berkembang biak dalam folikel rambut dan menyebabkan terjadinya nekrosis jaringan setempat. Kemudian terjadi koagulasi fibrin disekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis, selanjutnya disusul dengan serbukan sel radang, dipusat lesi akan terjadi pencairan jaringan nekrotik, cairan abses ini akan mencari jalan keluar ditempat yang paling kurang tahananya. Pengeluaran cairan abses diikuti dengan pembentukan jaringan granulasi (Syahrachman, *et al.*, 2002).

Peradangan setempat merupakan sifat khas dari infeksi *Staphylococcus aureus*. dari fokus ini bakteri akan menyebar kelain bagian tubuh lewat pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga peradangan dari vena dan trombosis merupakan hal yang biasa. khas pada osteomielitis fokus primer dari kuman terdapat pada pembuluh darah bagian terminal dalam metafisis dalam tulang panjang, kemudian terjadi nekrosis dari tulang dan peradangan yang kronis (Rachman, *et al.*, 2002).

### 2.3 Tinjauan Umum Infeksi

Proses infeksi terjadi adalah, apabila bakteri telah menempel atau melekat pada sel host yang biasanya pada sel epitel. Sesudah bakteri menetapkan lokasi infeksi primer, bakteri dapat berkembang biak dan menyebar secara langsung melalui jaringan atau melalui sistem limfatik ke aliran darah. Infeksi ini atau dikenali sebagai bakterimia dapat berlangsung sesaat atau menetap dan memungkinkan bakteri mencapai jaringan tertentu yang cocok untuk perkembangbiakannya. Pertahanan primer terhadap *Staphylococcus aureus* adalah respon neutrophil. Ketika *Staphylococcus aureus* memasuki kulit, neutropil dan makrofasia bermigrasi ketempat infeksi. *Staphylococcus aureus* menghindari respon ini dengan berbagai cara, termasuk menghalangi chemotaxis leukosit, mengakibatkan sel inang bersembunyi dari deteksi melalui kapsul polisakarida atau



pembentukan biofilm, dan melawan penurunan setelah konsumsi oleh fagosit (Tong, *et al.*, 2015).

## 2.4 Terapi

Dalam pengobatan tradisional baik berupa ramuan yang berasal dari tumbuhan, baik berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga atau bijinya. Agar pengobatan tradisional dapat dipertanggungjawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang identifikasi dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Penemuan obat-obat antibakteri yang baru telah berkembang dengan pesat, baik memiliki bentuk sediaan dengan penggunaan topikal maupun sistemik, yang bertujuan untuk mengurangi penyakit infeksi (Adfa, 2008).

Antibakteri yang berguna secara klinis disusun menjadi enam kelompok, penisilin, sefalosporin, tetracyclin, aminoglikoside, makrolide, dan fluoroquinolon (Harvey & Pamela, 2013). Dalam waktu 10 tahun setelah penggunaan penisilin pada manusia banyak kasus penggunaan penisilin sudah tidak efektif lagi terhadap *staphylococcus aureus*, karena enzim beta laktam dalam penisilin metisilin, sebagai obat yang diperkenalkan untuk mengobati *Staphylococcus aureus* resisten-penisilin, mulai muncul kasus resisten *staphylococcus aureus* (MRSA). Sudah lebih dari 4 dekade vankomisin telah menjadi obat pilihan dalam mengobati infeksi MRSA. Meskipun penggunaan vankomisin telah banyak meluas selama periode tersebut, isolasi pertama *vancomycin intermediate staphylococcus aureus* (VISA). Meskipun banyak antibiotik baru yang dapat menjadi pilihan terapi dalam pengobatan MRSA seperti linezolid dan daptomisin, obat-obat baru ini memiliki efek samping yang cukup serius (Hardana dan Warganegara, 2015).

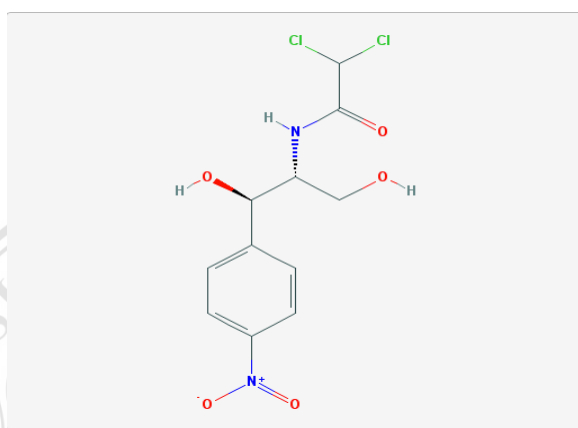
## 2.5 Tinjauan Umum Antibiotik

Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia sudah mulai sejak tahun 1940. Selama 63 tahun, penggunaan antibiotik semakin luas. Hal ini menyebabkan meluasnya potensi resisten bakteri. Pemilihan antibiotik merupakan suatu kunci dalam pengobatan kasus-kasus infeksi. Masalah global yang saat ini dihadapi tingginya penggunaan antibiotik yang tidak tepat indikasinya. Dampaknya adalah terjadi resisten antibiotik. Antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan



oleh berbagai macam mikroorganisme, yang dapat menghambat atau membasmi mikroba. Antibiotik memiliki dua efek utama, secara teraupetik obat ini menyerang organisme infeksius dan juga mengeliminasi bakteri lain yang bukan penyebab penyakit. Efek lainnya menyebabkan perubahan keseimbangan ekosiste antara strain peka dan yang resisten, konsekuensinya adalah gangguan ekologi microbial alami (Amin, 2014).

### 2.5.1 Mekanisme Kloramfenikol



**Gambar 2.4** Struktur Kimia Kloramfenikol (Pubchem, 2004).

Kloramfenikol diisolasi pertama kali pada tahun 1974 dari *Streptomyces venezuelae*, kloramfenikol merupakan kristal putih sulit larut dalam air (1:400) rasa pahit (Depkes, 2004). Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri. Digunakan untuk mengatasi berbagai macam penyakit yang berasal dari golongan parasit, bakteri, virus, dan jamur (Azizah, *et al.*, 2015).

Kloramfenikol memiliki aktivitas yang sangat baik terhadap anaerob. Obat ini bersifat bakterisidal atau lebih sering bakteriostatik, tergantung pada organismenya. Mekanisme kerja dari kloramfenikol obat ini berikatan dengan subunit 50S ribosom bakteri dan menghambat sintesis protein pada reaksi peptidil transferase. Oleh sebab kemiripan ribosom mitokondria mamalia dengan bakteri, sintesis protein dalam organel ini dapat dihambat pada kadar kloramfenikol yang tinggi dalam sirkulasi. Akan tetapi penggunaan klinis kloramfenikol terhadap pada infeksi terbatas dikarenakan memiliki efek samping yang serius terkait pemberiannya (Harvey & Pamela, 2013). Pada penelitian yang di lakukan (Hamdiyati *et al.*, 2015)

uji aktivitas antibakteri menggunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 30 $\mu$ /ml menghasilkan zona hambat sebesar 14,77 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

## **2.6 Metode Ekstraksi**

### **2.6.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan kedalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran yang sama (Mukhriani, 2014).

### **2.6.2 Tujuan Ekstraksi**

Ekstraksi bahan alam bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat kedalam cairan pelarut. Perpindahan tersebut mulai terjadi pada lapisan antarmuka, kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Dirjen POM., 1986).

### **2.6.3 Jenis Ekstraksi**

Secara umum metode ekstraksi dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat adalah ekstraksi yang dilakukan dengan berbagai pelarut yang memiliki kepolaran berbeda dan bertingkat dari kurang polar ke yang lebih polar. Sehingga diharapkan dapat memisahkan komponen-komponen berdasarkan polaritasnya, selain itu, komponen yang diekstraksi sekaligus terfraksinasi ke dalam golongan senyawa yang berlainan berdasarkan kepolarannya. Kelebihan menggunakan metode ekstraksi ini ialah dapat menghasilkan rendemen yang besar dengan senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Adapun ekstraksi tunggal adalah melarutkan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut. Kelebihan dari metode ini yaitu lebih sederhana dan tidak memerlukan banyak waktu, tetapi rendemen yang dihasilkan hanya sedikit (Taroreh, *et al.*, 2015).

#### 2.6.4 Cara-cara Ekstraksi

Proses ekstraksi dengan pelarut, dipengaruhi oleh sifat pelarut yang akan dipakai dan pemilihan pelarut ditentukan oleh kelarutan bahan volatile dan kemudahan pemisahan pelarut. Suatu senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang mempunyai polaritas yang sama atau mirip. Selain jenis pelarut, lama ekstraksi juga akan mempengaruhi senyawa yang akan diambil dari ekstrak (Adiyasa *et al.*, 2015). Pembagian metode ekstraksi yang dapat digunakan dalam metode ekstraksi (Harbone., 1987; Dirjen POM., 1986).

a. Penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan.

b. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai baik untuk skala kecil dan skala besar industri. Metode ini dilakukan dengan memasukan 10 bagian serbuk tanaman dan 75 bagian pelarut yang sesuai dengan ekstrak kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya matahari. Penyarian dihentikan setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan kedalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun disisi lain metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa –senyawa yang bersifat termolabil.

c. Perkolasi

Pada metode perkolasi serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai bagian cairan penyari dimasukan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit kedalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan kedalam bejana ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung cahaya. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam pelkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

d. Soxhlet

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

e. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemansan uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai dua bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

## 2.7 Tinjauan Pelarut

Jenis dan mutu pelarut yang digunakan sangat menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Ada 2 syarat agar pelarut dapat digunakan didalam proses ekstraksi, yaitu pelarut tersebut harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi, dan pelarut tersebut harus dapat terpisah dengan cepat setelah pengocokan. Dalam pemilihan pelarut yang harus diperhatikan adalah toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi serta reaktivitas (Amiarasi, *et al.*, 2006).

### 2.7.1 *n*-Heksana

*n*-Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul  $C_6H_{14}$ . Isomer *n*-heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena *n*-heksana bersifat non polar. *n*-Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C. *n*-heksana biasa digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki kepolaran yang sama (Aziz., *et al.*, 2009). *n*-Heksana merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan handayani., 2010).

**Tabel 2.1** Sifat Fisika Kimia *n*-heksana

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	cair
Titik lebur	95°C
Titik didih	69°C
Densitasi	0,6603 gr/ml pada 20°C

## 2.8 Uji Kepekaan Antimikroba Secara In-Vitro

Uji kepekaan antimikroba dimulai ketika WHO memprakarsai pertemuan di jenewa pada tahun 1977, perhatian yang lebih luas mengenai resistensi antimikroba yang berhubungan dengan infeksi pada manusia atau hewan. Tes kepekaan terhadap antimikroba adalah penentuan terhadap bakteri penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan resistensi terhadap suatu antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang hambat, maka semakin kecil konsentrasi daya hambat minimum. Untuk derajat kategori bakteri dibandingkan terhadap diameter zona hambat yang berbeda-beda setiap antimikroba sehingga dapat ditentukan kategori resisten, intermediet atau sensitive terhadap antimikroba uji. Uji kepekaan terhadap antimikroba dasarnya dapat dilakukan, melalui tiga cara yaitu: metode dilusi, metode difusi cakram, metode bioautografi (Soleha, 2015).

### 2.8.1 Metode Dilusi

Metode dilusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri dimana sejumlah zat antimikroba dimasukan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair, biasanya digunakan pengenceran dua kali. Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Harti, *et al.*, 2000). Keuntungan dan kerugian metode dilusi memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan bersama-sama. MIC dapat membantu dalam menentukan tingkat resistensi dan dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba. Kerugian dari metode ini tidak efisien karena pengerjaannya yang rumit, memerlukan banyak alat

dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaan termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Soleha, 2015).

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu, teknik dilusi perbenihan ccair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. antimikroba dilarutkan kedalam media agar atau kaldu, yang kemudian ditanami bakteri yang akan diuji. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC (Minimal Inhibitory Concentration).

a. Dilusi perbenihan cair

Dilusi perbenihan cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi, pada prinsipnya cara pengerjaan sama hanya berbeda dalam volume. untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml. Secara umum untuk menentukan MIC, pengenceran antimikroba dilakukan penurunan konsentrasi setengahnya, konsentrasi terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan pada bakteri.

b. Dilusi agar

Pada teknik dilusi agar, antibiotik sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan kedalam agar, sehingga akan memerlukan perbenihan agar sesuai jumlah pengenceran ditambah satu perbenihan kontrol tanpa penambahan antibiotik, konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri merupakan MIC antibiotik yang diuji. penentuan konsentrasi minimum antibiotik yang dapat membunuh bakteri dilakukan dengan menanam bakteri pada perbenihan cair yang digunakan untuk MIC kedalam agar kemudian diinkubasi semalam pada 37°C. Penentuan MBC (Minimum Bactericidal Concentration) dilakukan dengan penanaman dari semua perbenihan cair pada penentuan MIC. Keuntungan dan kerugian dari metode dilusi agar metode ini memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan bersama-sama. MIC dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi. kerugian dari metode ini pengerjaannya yang rumit dan tidak efisien memerlukan banyak alat dan ketelitian (Soleha, 2015).



### 2.8.2 Metode difusi Cakram

Metode difusi cakram Kirby Bauer diperkenalkan oleh William Kirby dan Alfred bauer pada tahun 1966 (Farida., 2015). Metode difusi cakram dilakukan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Perendaman cakram pada larutan uji hingga seluruh permukaan cakram basah. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinokulasi. Tingginya konsentrasi antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuknya zona bening disekitar cakram). Sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitive terhadap antimikroba.

Hasil dari tes kepekaan, mikroorganisme diklasifikasikan ke dalam dua atau lebih kategori yaitu sensitive dan resisten. Ukuran zona bening tergantung kepada kecepatan difusi antimikroba, derajat sensitifitas mikroorganisme, dan kecepatan pertumbuhan bakteri. zona hambat cakram antimikroba pada metode difusi berbanding terbalik dengan MIC. Semakin luas zona hambat, maka semakin kecil konsentrasi MIC. Untuk derajat kategori bakteri dibandingkan terhadap diameter zona hambat yang berbeda-beda setiap antimikroba, sehingga dapat ditentukan kategori resisten, intermediate atau sensitifitas terhadap antimikroba uji (Soleha, 2015). Metode ini lebih mudah di banding dengan metode yang lain dan lebih sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri sampel yang diuji, kertas cakram yang akan digunakan berdiameter 0,5 cm (Mulyadi, *et al.*, 2013).

### 2.8.3 Metode Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksi untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan kromatografi lapis tipis (Fadila, *et al.*, 2015). Identifikasi senyawa anatibakteri yang terdapat pada ekstrak suatu tumbuhan merupakan prosedur pertama, yang dilakukan pada sampel yang akan dianalisis, untuk mengetahui ada atau tidaknya analit yang didapat. Metode ini memberikan sensitivitas yang lebih tinggi daripada metode lainnya.

Bioautografi dilakukan dengan meletakkan plat KLT sampel yang telah dikeringkan di atas media yang telah diberi suspensi bakteri selama 20 menit. Media pertumbuhan bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 18-24 jam. Lalu diamati zona hambatan yang terbentuk (Aristiani dan Astuti., 2005).

## 2.9 Tinjauan DMSO

Metode pengenceran kaldu konvensional diterapkan untuk mengukur MIC. Hal ini membutuhkan pembuatan berbagai pengenceran senyawa yang diuji dalam pelarut yang sesuai. dalam uji dilusi ekstrak yang digunakan harus larut dengan air. Air sering tidak mampu melarutkan ekstrak karena memiliki polaritas yang berbeda atau komponen non-polar dari ekstrak kering. Alternatifnya untuk melarutkan ekstrak adalah dengan menggunakan pelarut seperti metanol, etanol, atau DMSO. Pemilihan pelarut yang tepat merupakan salah satu faktor paling signifikan yang dapat mempengaruhi pengukuran MIC (Junior *et al.*, 2015).

Secara in-vitro dibandingkan dengan etanol, DMSO lebih sering digunakan. DMSO adalah pelarut organik polar yang digunakan untuk melarutkan senyawa apolar. Namun efek pelarut DMSO pada pertumbuhan bakteri merupakan faktor penting untuk dipertimbangkan karena konsentrasi yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Junior *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh (Wadhvani *et al.*, 2008) untuk melihat daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode dilusi dengan pelarut DMSO menggunakan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%. Menyimpulkan bahwa pada pemberian DMSO dengan konsentrasi >4% menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.